Wachstums- und Phagocytose-versuche an Protozoën.

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der Medizin,

Chirurgie und Geburtshilfe

einer hohen medizinischen Fakultät der

Universität Leipzig

vorgelegt von

Dr. phil. Hermann Euscher
aus Essen a. Ruhr
approbierter Arzt.

ACAD.
LUGD.BAT.
BIBL.

Emil Lehmann, Leipzig
Spezialdruckerei für Dissertationen
1914.

Gedruckt mit Genehmigung der medizinischen Fakultät
zu Leipzig. 22. Juni 1914.

Referent: Herr Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Kruse.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547019_0071

Einleitung.

Die Kultivierung und Fortzüchtung der Amöben auf festen Nährböden ist nach dem Studium der letzten zwanzig Jahre derartig ausgebildet, daß sie jetzt die beste Methode darstellt, um die Entwickelung und die physiologischen Lebenserscheinungen der Protozoën zu studieren. Von diesem Grundgedanken ausgehend wurden die nachfolgenden Untersuchungen angestellt. Es wurden eine Anzahl von Arten freilebender Protozoën, Amöben, Flagellaten und Ciliaten von flüssigen Kulturen auf feste Nährböden übertragen und in einer langen Reihe von Generationen fortgezüchtet. Sodann wurden an verschiedenen Formen Versuche über die Freßtätigkeit mit bestimmten Bakterien angestellt. Wir versuchten eine ganze Reihe von Bakterienarten; in allen Fällen erzielten wir ein günstiges Resultat. Wenn eine Reinkultur von Protozoën mit einem bestimmten Bakterium nicht erhalten wurde, worüber Versuche übrigens früher in ausgedehntem Maße angestellt sind, so lag dies ausschließlich daran, daß diese Versuche nicht lange genug fortgesetzt werden

konnten. Reinkulturen von Amöben ohne Bakterien konnten nicht erzielt werden; ja, es wurde der Beweis erbracht, der auch die Ansicht einer Unmöglichkeit einer bakterienfreien Amöbenreinkultur bestätigt, daß überall da wo eine starke Beeinträchtigung des Baktierienwachstums stattfindet, auch das Protozoënwachstum und vor allem die Bewegungsfähigkeit der einzelnen Formen erhebliche Einbuße erleidet. Endlich wurden noch in flüssigen Kulturen, mit entsprechender Anwendung auf festen Nährböden, das Wachstum von Amöben in Salzlösungen von bekannter Konzentration untersucht. Hier zeigte sich im wesentlichen bei Natriumchlorid und bei Kalziumchlorid in geringer Konzentration eine günstige Beeinflussung der Wachstumsfähigkeit, während die stärkeren Konzentrationen (1 % und 3 %) bereits allgemein hemmend auf das Wachstum wirken. Besondere Schwierigkeiten, vor allem bei den letzten Untersuchungen bot die Methode; deshalb wurde auch sie zu einem besonderen Gegenstand der Arbeit gemacht. Die Untersuchungen wurden ausgeführt in den hygienischen Instituten der Universitäten Bonn und Leipzig auf Veranlassung und unter Leitung von Herrn Geheimrat Prof. Dr. Kruse, dem ich hiermit für sein Interesse und seine Mühewaltung herzlichen Dank sage. Ebenso danke ich Herrn Privatdozenten Dr. Seitz für die Ratschläge, die mir von seiner Seite zuteil wurden.

Geschichtliches.

Zur Fortzüchtung der Protozoën wurden früher hauptsächlich flüssige Kulturen benutzt. In den ersten Zeiten der Protozoënforschung züchtete man sie in der Flüssigkeit, in welcher sie lebten. Dann wandte man sterile Infuse und Dekokte von Heu, Stroh, Erbsen, Hanf an, denen in geringen Mengen ein Zusatz von Traubenzucker, Milch oder Peptonwasser gegeben wurde. Feste Nährböden zur Fortzüchtung von Amöben benutzten zuerst Celli und Fiocca im Jahre 1893. Seit dieser Zeit wurden eine ganze Serie von Nährböden in der Literatur bekanntgegeben; so züchtete man auf Fucus-Gallerte, auf Gelatine, Agar, auf Gipsblöcken, auf Kreide, die mit Kochsalzlösung getränkt war, auf Heuinfusagar und anderen mehr. Kulturen von Amöben mit bestimmten Bakterien wurden von einer ganzen Reihe von Forschern gezüchtet und auch die Methode zur Erlangung solcher gemischter Reinkulturen genau beschrieben. Es kamen hauptsächlich zwei Methoden in Betracht, von denen die erste den Amöbennährboden zunächst mit den Bakterien vorbehandelt und nachher die Amöben überimpft; während die andere Amöben und Bakterien gleichzeitig überträgt, und zwar die Bakterien in Ringform um die in der Mitte der Platte befindliche Amöbenkultur anlegt. Wiederholt ist betont und durch Untersuchungen be-

stätigt worden, daß eine Reinkultur von Amöben ohne Bakterien unmöglich ist. Wachstumsversuche mit Salzlösungen wurden bisher nur insoweit gemacht, als man feststellte, daß starke Konzentrationen schädlich seien, ebenso daß ein Säurezusatz schädlich sei, während eine geringe Alkalität des Nährbodens sich günstig für die Amöbenentwickelung erwies. Aehnliche Versuche, wie die unten beschriebenen, zur genauen Feststellung des Einflusses nach Qualität und Konzentration verschiedener Lösungen, wurden in der Literatur nicht gefunden. Ein Verzeichnis der benutzten Literatur befindet sich am Schlusse der Arbeit.

Methodik.

Die bei den angestellten Untersuchungen benutzten Protozoën stellten durchweg freilebende Formen dar. Aus Stroh- und Heuinfusen, sowie aus Teichkulturen der Umgebung von Bonn wurden Mischkulturen gezüchtet, hieraus nach Möglichkeit in feuchten Kulturen bestimmte Formen isoliert und auf feste Nährböden übertragen. Wenn die erste Plattenkultur noch eine Mischkultur darstellte, gelang es regelmäßig, die zweite Generation in reiner Form zu züchten. Der Nährboden setzte sich folgendermaßen zusammen:

900 Teile Wasser;

100 Teile Bouillon, die 1% Pepton und 0,5% Natriumchlorid enthielt: 7,0 g Agar.

Die Kulturen legten wir an in Petrischalen oder Schrägagar. Petrischalen erwiesen sich als vorteil-

hafter, weil das Wachstum der Tiere direkt unter dem Mikroskop beobachtet werden konnte. In dem Deckel der Petrischalen befand sich ein feuchtgehaltenes Fließpapier, um den Kulturen die nötige Feuchtigkeit zukommen zu lassen. Die Temperatur, bei der die Kulturen standen, war verschieden. Im allgemeinen kann man sagen, daß bei einer Temperatur von 22° ein gleichmäßiges Wachstum eintritt, wobei auch die Form der Amöben nicht geschädigt wird. Bei 37° trat regelmäßig eine Beschleunigung der amöboïden Bewegung auf, dabei aber bedeutend raschere Encystierung und, wenn die Platten länger bei dieser Temperatur gehalten wurden, deutlicher Zerfall. Auch bei gewöhnlicher Temperatur gediehen die Platten, nur dauerte die Zeit bis der Amöbenrasen sich zum Rand der Petrischale ausgedehnt hatte, entsprechend länger, als bei einer dauernden Temperatur von 22°. Die gewachsenen Protozoën wurden weiter auf andere Platten übertragen und auf diese Weise eine ganze Reihe von Generationen erzielt. Zur Herstellung von Reinkulturen von Amöben mit einem bestimmten Bakterium gaben beide oben beschriebenen Methoden gute Resultate. Am besten bewährte sich die gleichzeitige Uebertragung von Amöben und Bakterien, wo die Bakterien in Ringform um die in der Plattenmitte angelegte Amöbenkultur ausgestrichen wurden. Es machte sich jedoch durchweg die Schwierigkeit bemerkbar, daß die übertragenen Bakterien auf dem Amöbenagar schlecht wuchsen und — um eine überwiegende Mehrzahl gegenüber den verunreinigenden Bakterien zu er-

zielen — häufig mit neuem Material beschickt werden mußten. Nach zwei bis drei Generationen war dann ein deutliches Ueberwiegen der neuen Bakterienart vorhanden. Die gewachsenen Protocoën wurden untersucht im hängenden Tropfen und in gefärbten Präparaten. Die Fixierung der Präparate zur Sichtbarmachung der Phagocytose bereitete erst ziemliche Schwierigkeiten. Es stellte sich heraus, daß ein Zusatz von Serum oder Ascitesflüssigkeit zum besseren Anhaften der Tiere an den Objektträger für die spätere Färbung sehr nachteilig war. Ohne diese Zusätze waren die Präparate bedeutend klarer und übersichtlicher. Als beste Fixierungsmittel erwiesen sich heißer Sublimatalkohol, Zenkersche Lösung oder einfach absoluter Alkohol. Auch Osmiumsäuredämpfe mit nachfolgender Behandlung in 50% Alkohol gaben, besonders was die Erhaltung der Pseudopodien anbetrifft, günstige Resultate. Die Färbung wurde bei grampositiven Futterbakterien nach Gram gemacht; Nachfärbung erfolgte mit Safranin- oder Boraxkarminlösung. Hierbei erzielten wir die besten mikroskopischen Bilder. Karbolthioninlösung gab nicht bessere Resultate. Bei gramnegativen Futterbakterien ergaben Färbungen mit ganz verdünnten Methylenblau- oder Fuchsinlösungen auch gute Präparate. Zur Strukturfärbung wurde die Heidenhain'sche Methode verwendet. Die Prüfung der Phagocytose geschah nur an Amöben. Die Schwierigkeit der Untersuchung lag besonders darin, daß einmal die Amöben nie ganz bakterienfrei in die zu untersuchende Bakterienart gebracht werden

konnten. Im Inneren des Amöbenleibes blieben meist Reste sporenbildender Bakterien zurück, die später frei wurden und öfters die zu untersuchende Bakterienform überwucherten. Dann kam hinzu, daß auch die Amöben selbst weiterwuchsen und gerade dieser Umstand erschwerte die einwandfreie Beurteilung des Grades der Phagocytose sehr, da die Weiterentwickelung der Amöben nicht überall gleichmäßig war. Zuerst wurden die Versuche angestellt in Capillaren nach Art der Wright'schen Methode zur Prüfung der Phagocytose bei Leukocyten. Bis zu einer Marke wurden gleiche Teile einer Amöben- und Bakterienaufschwemmung aufgezogen, gemischt und eine Zeit lang bei 37° gehalten. Die Präparate, die nach 10 Minuten, nach einer halben, nach einer Stunde gemacht wurden, waren ergebnislos. Da eine längere Haltung in den Capillaren wegen des Sauerstoffmangels der Amöben nicht angängig war, wurde diese Methode verlassen und die Phagocytose auf Platten geprüft. Zu diesem Zwecke wurden Platten mit Amöbenagar zunächst mit der zu untersuchenden Bakterienart beschickt und diese nun einen Tag bei 37,5° gehalten. Am nächsten Tage wurden dann Amöben von einer gut besetzten Platte übergeimpft. Manche Bakterien, besonders Staphylococcen, wuchsen sehr schlecht auf dem Amöbenagar und deshalb mußten häufig neue Staphylococcen übertragen werden, um ein Ueberwuchern der übrigen Bakterien besonders des Bacillus subtilis zu vermeiden. In den gefärbten Präparaten wie auch in der Färbung lebender Amöben mit Neutralrot im hängenden

Tropfen war immer eine Phagocytose festzustellen. In der Zeit war jedoch ein einheitliches Resultat nicht zu erzielen. Manchmal war nach 15 Stunden, manchmal erst nach zwei bis drei Tagen in den Präparaten eine Freßtätigkeit der Amöben nachweisbar. Weiter nach zwei bis drei Tagen, wenn man die Platten sich selbst überließ, war von Phagocytose der zugesetzten Bakterien nichts mehr zu sehen — manchmal kam es vor, daß einzelne Amöben ganz grampositiv sich färbten; Umrisse von Coccen aber nicht erkannt werden konnten — so daß man also wohl eine Verdauung bez. Auflösung der Bakterien innerhalb des Amöbenleibes annehmen konnte. Die letzten Versuche der Phagocytose wurden in flüssigen Kulturen gemacht. Es sollte hierbei der Einfluß von Salz- und ähnlichen Lösungen untersucht werden. Hierbei machte sich in manchen Lösungen ein ganz verschieden — schnelles Wachstum bemerkbar und deshalb wurde auch die Untersuchung speziell dieser Erscheinung zum Gegenstand eines Teiles der Arbeit gemacht. Die Kulturen bestanden aus den zu untersuchenden Salzlösungen verschiedener Konzentration, denen tropfenweise Amöbenaufschwemmungen und Bakterien zugesetzt wurden. Gehalten wurden sie in hohlgeschliffenen Objektträgern, denen ein Paraffinring oder Glasring aufgekittet war. Sie wurden in großen Petrischalen unter entsprechender Feuchtigkeit vor Verdunstung geschützt; sie bestanden aus acht Tropfen der zu untersuchenden Flüssigkeit, zwei Tropfen Amöbenaufschwemmung und zwei Tropfen Bakterienauf-

schwemmung. Letztere wurden mit destilliertem Wasser und zwei bis drei Tage alten Kulturen hergestellt. Ob Wachstum eingetreten war wurde festgestellt durch Zählung in der Thoma-Zeiß'schen Blutkörperchenzählkammer; und zwar wurde gezählt zu Anfang, wenn die Kultur angelegt war und dann weiter alle 24 Stunden. Ein Versuch wurde drei bis vier Tage lang verfolgt. Kontrollversuche wurden mit größeren entsprechenden Mengen der einzelnen Bestandteile ausgeführt. Die Tabellen ergeben das Resultat. Die angeführten Zahlen stellen die Anzahl der in dem ganzen Quadrat der Zählkammer enthaltenen Amöben dar. Da dieses Quadrat einen Flächinhalt von einem Quadratmillimeter hat und die Höhe der Kammer $^1/_{10}$ mm beträgt, muß man, um die Zahl der Amöben in $^1/_{10}$ cmm zu erhalten, die angegebenen Zahlen mit Zehn multiplizieren. Die Prüfung der Phagocytose in den flüssigen Kulturen wurde ebenso wie auf den Platten ausgeführt. Dabei wurden auch abgetötete Staphylococcen von den Amöben aufgenommen; sie waren im Präparat färberisch nachweisbar.

Arten der gezüchteten Protozoën.

Es wurden auf festen Nährböden verschiedene Formen saprophytischer Amöben gezüchtet. Genau festgestellt werden konnte Amöba limax, die die weitaus besten Resultate lieferte. Ihre Größe schwankte zwischen 12 und 24 μ. Kleinere Amöben aus Strohinfusen ließen sich außerordentlich gut züchten; eine

sehr große, bis 25 μ, proteusartige Form, konnte ebenfalls in einer Reihe von Generationen gezüchtet werden. Im ganzen waren es vier verschiedene Formen, die sich gut züchten ließen. Flagellaten wurden in geringerer Anzahl, meistens kleine Formen beobachtet; sie ließen sich auch in guter Weise Generationen lang von Platte zu Platte übertragen. Von Ciliaten wurde hauptsächlich gezüchtet; Colpidium colpoda. Alle Ciliatenkulturen müssen gut feuchtgehalten werden (Fließpapier im Plattendeckel) da andernfalls sehr bald Encystierung eintrat. Stylonychia mytilus und Vorticellen wurden auf verschiedenen Platten gezüchtet, konnten aber wegen der Größe der Formen nicht lange im Bewegungsstadium gehalten werden; es trat immer bereits am zweiten oder dritten Tag Encystierung ein. Paramaecien konnten trotz häufiger Versuche nicht beweglich gehalten werden.

Phagocytose bei Amöben.

Die Methodik der Untersuchungen ist oben beschrieben. Es lag dabei der Hauptzweck vor, Einflüsse von Salz- und ähnlichen Lösungen auf die Phagocytose festzustellen. Entsprechende Versuche an Leukocyten sind von Hamburger (siehe Literaturverzeichnis) in ausgedehntem Maße gemacht worden. Er benutzte eine Aufschwemmung von Pferdeleukocyten und untersuchte an ihnen den Einfluß einer ganzen Reihe von Salzen auf die Phagocytose. Als Futtermaterial benutzte er fein gepulverte Tierkohle. Die Anordnung

der Versuche war so, daß er in Centrifugengläschen 0,4 ccm der Leukocytenemulsion und 6 ccm der zu untersuchenden Flüssigkeit zusammenbrachte. Dies ließ er einige Zeit stehen und dann nahm er 1 ccm der Suspension füllte es in ein Cylindergläschen mit geschliffenem Glasstöpsel von 2 cm Durchmesser und ca. 20 cm Inhalt, setzte eine geringe Menge Tierkohle hinzu und gab nach einigem Umschütteln noch 2 ccm der Suspension dabei. Diese 3 ccm wurden im Brutschrank bei 37° gehalten, alle 10 Minuten gut durchgeschüttelt. Im ganzen blieben sie eine halbe bis eine Stunde im Brutschrank und wurden dann an einem kühlen Orte aufbewahrt. Nach einer oder mehreren Stunden wurden dann Präparate angefertigt. Hamburger fand bei seinen Untersuchungen, daß die Phagocyten in Lösungen, die dem Blutserum isotonisch und isometrisch sind, am besten vor sich geht. Besonders günstige Resultate fand er bei Calcium. Die Wirkung des Calciums stellte er als eine Beschleunigung der Phagocytose fest, nicht als eine absolute Begünstigung, da das Endresultat des Prozentgehaltes der Leukocyten, die gefressen hatten, mit den übrigen übereinstimmte. Es fand sich also nur ein Unterschied in den einzelnen Zeitabschnitten. Außerdem stellte Hamburger fest, daß die Mehrzahl der lipoïdlöslichen Stoffe in ganz geringen Konzentrationen einen Reiz auf die phagocytierenden Zellen ausüben.

Die Versuche an Amöben wurden mit verschiedenen Bakterien gemacht; in der Hauptsache wurden Staphylococcen benutzt, da diese am besten durch die

Gramfärbung nachweisbar waren. Auch andere Bakterien erwiesen sich als günstig, so vor allem Bakterium coli und Sarcine. Staphylococcen wuchsen nicht gut auf dem Amöbenagar und mußten deshalb wiederholt übertragen werden. Es trat bei allen Versuchen Phagocytose ein, sowohl in einfachen Kulturen mit Wasser als auch in zusammengesetzten mit Salzlösungen. Nach 12 bis 24 Stunden waren meistens innerhalb der Amöben färberisch die zugesetzten Bakterien nachweisbar. Es wurden Versuche angestellt mit Wasser, mit normalem Kaninchenserum, in $^1/_1$, $^1/_{10}$, $^1/_{50}$ und $^1/_{100}$ Verdünnung, und mit verschiedenen Salzlösungen: Calciumchlorid, Bariumchlorid, Magnesiumchlorid, Magnesiumsulfat, Kaliumkarbonat, Natriumchlorid, Citronensäure, Aepfelsäure. Die Lösungen wurden benutzt in 0,1 %, 0,5 %, 1 % und 3 % Konzentration. Die folgenden Aufstellungen von vier der untersuchten Salzlösungen wurden nach gefärbten Präparaten gemacht.

Es fand sich bei Natriumchlorid nach 24 Stunden:

in 0,1 % Lösung viele Amöben, reichlich Staphylococcen, viele Amöben hatten gefressen, viele auch nicht;

in 0,5 % Lösung reichlich Staphylococcen und Amöben; Amöben haben gut gefressen.

in 1 % Lösung reichlich Staphylococcen; Amöben haben gut gefressen.

in 3 % Lösung reichlich Staphylococcen; Phagocytose nicht bemerkenswert.

Es fand sich bei Kaliumcarbonat nach 24 Stunden:

in 0,1 % Lösung mäßig reichlich Staphylococcen;

viele Amöben, von denen einige nicht gefressen haben, die übrigen alle Phagocyt. aufweisen;

in 0,5 % Lösung Staphylococcen reichlich; Phagocytose gut;

in 1 % Lösung Staphylococcen nicht reichlich; Phagocytose gut;

in 3 % Lösung viel Staphylococcen, wenig Amöben, keine Phagocytose.

Es fand sich bei Magnesiumsulfat nach fünfzehn Stunden:

in 0,1 % Lösung Staphylococcen und Phagocytose reichlich; viele Amöben haben nicht gefressen;

in 0,5 % Lösung Staphylococcen gering; Phagocytose vorhanden.

in 1 % Lösung Staphylococcen reichlich, Amöben haben gut gefressen;

in 3 % Lösung, kein Unterschied zur vorhergehenden.

Es fand sich bei Calciumchlorid nach 15 Stunden:

in 0,1 % Lösung Staphylococcen nicht reichlich; viele Amöben haben gefressen, einige nicht;

in 0,5 % Lösung Staphylococcen gering Phagocytose vorhanden;

in 1 % Lösung Staphylococcen reichlich, Phagocytose bedeutend stärker wie in 0,1 % und 0,5 % Lösung.

in 3 % Lösung Staphylococcen nicht reichlich; Phagocytose mäßig.

Aus diesen Aufzählungen geht hervor, daß in allen verdünnten Salzlösungen eine reichliche Anzahl von Amöben sich befinden, die nicht gefressen haben. Es

ist dies so zu erklären, daß in den betreffenden Kulturen zu gleicher Zeit ein starkes Wachstums- und Teilungsvermögen bestand, so daß die Phagocytose gegenüber den anderen Kulturen, in denen die stärkere Konzentration dem Wachstum hinderlich war, zurücktrat. Ein besonderer Einfluß irgend einer Salzlösung, auch nur auf die Beschleunigung der Freßtätigkeit in günstigem Sinne konnte nicht festgestellt werden.

Wachstumsversuche an Amöben.

Bei den Phagocytoseversuchen stellte sich heraus, daß in manchen Salzlösungen die Amöben schneller wuchsen und dies gab Veranlassung zu den letzten Versuchen, deren Methodik bereits oben ausführlich besprochen wurde. Aus den nachfolgenden Tabellen ist ersichtlich, daß eine ganze Reihe von Salzlösungen untersucht wurde; teilweise an mehreren Versuchen mit Kontrollproben. Verschiedene Lösungen, die kein günstiges Resultat gaben, wurden von vornherein zu Wiederholungsversuchen nicht benutzt, wie z. B. rotes Blutlaugensalz, Jodkalium; diese sind in den Tabellen nicht aufgeführt. Die Lösungen wurden alle in 0,1 %, 0,5 %, 1 % und 3 % Konzentration benutzt. Ferner wurden von Calcium-, Magnesium-, Kalium- und Natriumchlorid Normallösungen hergestellt und von diesen mit $^1/_5$, $^1/_{15}$, und $^1/_{50}$ Verdünnungen Versuche gemacht. Diese Verdünnungen entsprechen ungefähr den drei niedrigsten Konzentrationen der prozentualen Lösungen.

Bei allen Versuchen wurden Kontrollen mit Wasser angesetzt.

Im ganzen kann man sagen, daß starke Konzentrationen ungünstig die Form und Weiterentwicklung der Amöben beeinflussen, während schwache Konzentrationen im allgemeinen etwas günstiger wirken als Wasser. Besonders günstige Resultate wurden erzielt in 0,1 % Natriumchloridlösung und in den schwachen Konzentrationen der Calciumchloridlösungen.

Zum Schlusse der Untersuchungen wurden noch zu festen Nährböden Salzzusätze gemacht, um festzustellen, ob die günstige Wirkung der Salze in flüssigen Kulturen auch auf feste übertragen werden kann. Es wurden sechs verschiedene Nährböden bereitet. Die Zusammensetzung war folgende: Alle enthielten 0,7 % Agar. Beim ersten war der Agar in 0,1 % Natriumchloridlösung gelöst und 0,1 % Pepton zugesetzt. Der zweite war ebenso wie der erste, enthielt aber kein Pepton. Beim dritten war der Agar in 1/10 verdünnter Locke'scher Lösung gelöst. Die Zusammensetzung der „Locke"schen Lösung ist: Natriumchlorid 9,5, Kalciumchlorid 0,48, Kalciumchlorid 0,48, Kaliumchlorid 0,42, Natriumbicarbonat 0,15 Wasser 1000; der dritte Nährboden enthielt wieder 0,1 % Pepton, während der vierte ohne Pepton war, sonst wie drei. Beim fünften und sechsten war der Agar in verdünnter Locke'scher Lösung gelöst; der fünfte enthielt 0,1 % Pepton; der sechste enthielt kein Pepton.

Von einer Amöbenaufschwemmung wurde zu gleicher Zeit in die Mitte der sechs Kulturen eine

kleine Oese übertragen und zwar ohne Ausstrich; gehalten wurden die Platten dauernd bei 22°. Auf den Nährböden ohne Pepton zeigte sich am ersten und zweiten Tage eine große Bewegungsfähigkeit der Amöben; diese ließ jedoch am dritten Tage erheblich nach zugunsten der anderen Platten, denen Pepton zugesetzt war. Hier war bei 1/10 Natriumchlorid- und bei 1/10 Lockescher Lösung die Bewegungsfähigkeit und das Wachstum am stärksten. Am vierten Tage zeigte es sich, daß auf den Platten mit Peptonzusatz der Amöbenrasen sich bis an den Rand der Schalen über die Agarfläche ausgedehnt hatte, während auf den übrigen ohne Peptonzusatz nur etwa 1/3 der Agarfläche besetzt und in der unverdünnten Locke'schen Lösung überhaupt keine Ausbreitung der überimpften Kultur zu sehen war. Außerdem wiesen hier die Amöben, besonders in der Peripherie, langgezogene, stark geschrumpfte Formen auf, die einen schlecht lebensfähigen Eindruck machten. Es wurde durch die letzten Versuche jedenfalls erwiesen, daß ein geringer Peptonzusatz zu dem Nährboden für die Entwickelung durchaus notwendig ist. Die Erklärung hierfür ist am einfachsten die, daß auf den peptonlosen Nährböden Bakterien äußerst schlecht gediehen und mithin auch die Amöben durch Nahrungsmangel eine indirekte Schädigung erfahren, nicht nur in starken Konzentrationen der zugefügten Salzlösungen, wo man ja auch eine direkte Schädigung der Zelle annehmen muß, sondern auch in Konzentrationen, die mit Peptonzusatz äußerst günstige Entwickelungsbedingungen abgeben.

Das Wachstum in $^1/_{10}$ % Natriumchlorid und in $^1/_{10}$ verdünnter Locke'scher Lösung war ungefähr gleichmäßig, jedenfalls bedeutend stärker als in dem Agar mit unverdünnter Locke'scher Lösung. Weiteren Versuchen dieser Art muß es vorbehalten bleiben, den immerhin schon recht günstigen Nährböden, in der oben angegebenen Zusammensetzung, weiter zu verbessern. Die nachfolgenden Tabellen geben die Uebersicht über die Wachstumsversuche in flüssigen Kulturen, wie sie in dem Kapitel der Methodik eingehend beschrieben sind.

Schwefelsäure.

$^1/_{10}$ norm. = 0,5 %.

	Dest. Wasser	$^1/_{10000}$ norm.	$^1/_{000}$ norm.	$^1/_{100}$ norm.	$^1/_{10}$ norm.
1. Tag	8	8	7	5	5
2. Tag	13	15	8	7	5
3. Tag	15	17	10	7	5

Natronlauge.

$^1/_{10}$ norm. = 0,4 %.

	Dest. Wasser	$^1/_{10000}$ norm.	$^1/_{1000}$ norm.	$^1/_{100}$ norm.	$^1/_{10}$ norm.
1. Tag	8	8	7	7	2
2. Tag	12	11	8	7	—
3. Tag	15	22	16	10	—

Calciumchlorid.

	Dest. Wasser	0,1 %	0,5 %	1 %	3 %
1. Tag	10	8	8	8	10
2. Tag	17	12	10	6	6
3. Tag	20	22	15	10	5
1. Tag	12	10	12	14	11
2. Tag	20	15	15	8	8
4. Tag	25	38	20	18	8

Calciumchlorid.
(Fortsetzung.)

	Dest. Wasser	0,1 %	0,5 %	1 %	3 %
1. Tag	12	8	8	5	9
2. Tag	10	10	11	12	14
3. Tag	15	15	12	15	16
4. Tag	45	88	45	40	24
1. Tag	12	13	9	8	7
2. Tag	14	25	15	24	8
3. Tag	24	38	28	40	29
4. Tag	23	50	36	40	20

	Dest. Wasser	1/50 norm.	1/15 norm.	1/5 norm.	
1. Tag	4	5	6	5	
2. Tag	7	10	12	6	
3. Tag	9	13	19	8	
4. Tag	11	15	24	12	

Kaliumcarbonat.

	Dest. Wasser	0,1 %	0,5 %	1 %	3 %
1. Tag	18	12	18	18	15
2. Tag	20	16	6	3	2
3. Tag	24	28	12	2	2
4. Tag	30	72	18	3	—

Kaliumchlorid.

	Dest. Wasser	0,1 %	0,5 %	1 %	3 %
1. Tag	1	1	2	1	2
2. Tag	2	6	5	3	2
3. Tag	4	8	10	11	2

	Dest. Wasser	1/50 norm.	1/15 norm.	1/5 norm.
1. Tag	4	7	5	7
2. Tag	7	12	12	8
3. Tag	9	14	15	10
4. Tag	11	16	17	12

Locke'sche Lösung.

	Dest. Wasser	1/50 Verd.	1/15 Verd.	1/5 Verd.
1. Tag	6	4	4	4
2. Tag	8	14	10	7
3. Tag	10	14	12	10
4. Tag	12	16	12	10

Magnesiumcitrat.

	Dest. Wasser	0,1 %	0,5 %	1 %	3 %
1. Tag	10	10	10	11	10
2. Tag	25	12	13	16	20
3. Tag	28	50	40	30	28
4. Tag	35	48	45	40	35

Magnesiumcitrat.
(Fortsetzung.)

	Dest. Wasser	0,1 %	0,5 %	1 %	3 %
1. Tag	6	3	6	6	6
2. Tag	18	5	15	16	20
3. Tag	50	10	20	12	45
4. Tag	60	10	30	35	38
1. Tag	11	14	10	8	5
2. Tag	12	13	15	10	10
3. Tag	13	12	18	12	20
4. Tag	48	6	15	15	25

Magnesiumchlorid.

	Dest. Wasser	1/50 norm.	1/15 norm.	1/5 norm.	
1. Tag	6	5	5	4	
2. Tag	8	8	12	6	
3. Tag	10	10	14	12	
4. Tag	12	12	16	14	

Magnesiumsulfat.

	Dest. Wasser	0,1 %	0,5 %	1 %	3 %
1. Tag	6	6	4	4	14
2. Tag	10	24	15	9	13
3. Tag	30	46	20	24	20
4. Tag	50	55	20	14	20

Magnesiumsulfat.
(Fortsetzung.)

	Dest. Wasser	0,1 %	0,5 %	1 %	3 %
1. Tag	9	11	10	10	15
2. Tag	23	17	23	18	19
3. Tag	28	52	40	35	30
4. Tag	35	60	45	38	28

Natriumchlorid.

	Dest. Wasser	0,1 %	0,5 %	1 %	3 %
1. Tag	17	17	15	14	18
2. Tag	15	20	6	5	3
3. Tag	18	45	35	4	4
4. Tag	30	55	35	15	—

Anm.: Zwischen dem 1. u. 2. Tag hat die Kultur bei 37° gestanden.

1. Tag	4	2	4	3	4
2. Tag	12	10	4	6	—
3. Tag	15	25	21	12	—
4. Tag	15	28	20	13	—

1. Tag	8	16	10	10	3
2. Tag	11	40	29	20	1
3. Tag	25	36	85	58	1

Natriumchlorid.
(Fortsetzung.)

	Dest. Wasser	1/50 norm.	1/15 norm.	1/5 norm.	
1. Tag	4	5	6	7	
2. Tag	7	15	15	10	
3. Tag	9	15	14	12	
4. Tag	11	18	14	12	

Natriumphosphat.

	Dest. Wasser	0,1 %	0,5 %	1 %	3 %
1. Tag	10	10	7	9	8
2. Tag	20	13	8	11	8
3. Tag	25	20	16	20	7
1. Tag	8	12	8	12	12
2. Tag	20	18	10	15	12
4. Tag	30	30	29	35	12

Pepton.

	Dest. Wasser	0,1 %	0,5 %	1 %	3 %
1. Tag	14	15	13	15	12
2. Tag	16	16	8	6	6
3. Tag	18	3	3	2	2
4. Tag	21	6	20	35	4

Normales Kaninchenserum.

	Dest. Wasser	1/100 Verd.	1/50 Verd.	1/10 Verd.	unverdünnt
1. Tag	6	3	3	2	4
2. Tag	15	10	6	—	2
4. Tag	43	22	10	—	—
1. Tag	3	3	3	4	4
2. Tag	9	5	10	2	2
3. Tag	30	17	26	2	—
1. Tag	10	6	7	8	7
2. Tag	11	5	7	7	—
3. Tag	14	4	4	—	—

Traubenzucker.

	Dest. Wasser	0,1 %	0,5 %	1 %	3 %
1. Tag	16	14	16	14	12
2. Tag	20	22	25	15	12
4. Tag	27	43	35	50	20
5. Tag	35	43	40	75	20

Literaturverzeichnis.

Beyerinck, Culturversuche mit Amöben auf festem Substrat. Centralbl. f. Bakt. 1. Abt. Band 19 und 21.

Doflein, Lehrbuch der Protozoënkunde. Jena 1909.

Frosch, Zur Frage der Reinzüchtung der Amöben. Centralbl. f. Bakt. 1. Abt., Band 21.

Hamburger, Osmotischer Druck und Jonenlehre in den medizinischen Wissenschaften. Band 1 u. 2, Wiesbaden 1902 u. 04.

Hamburger, Physikalisch-chemische Untersuchungsmethoden an Phagocyten. Wiesbaden 1912.

Prowacek, Handbuch der pathogenen Protozoën. Wiesbaden 1912.

Prowacek, Technik der Protistenuntersuchung 1909.

Schardinger, Reinkultur von Protozoën. Centralblatt f. Bakt. Band 19.

Vahlkampf, Beiträge zur Biologie und Entwicklungsgeschichte von Amöba limax einschließlich der Züchtung auf künstlichem Nährboden. Archiv für Protistenkunde Band 5.

v. Wasielewski und Hirschfeld, Zur Technik der Amöbenuntersuchung. Hygien. Rundschau 1909.

Wülker, Die Technik der Amöbenzüchtung. Bakteriol. Centralblatt Band 50.

Zaubitzer, Studien über eine dem Strobinfus entnommene Amöbe. Inaug.-Diss. der med. Fakult. Marburg.

Lebenslauf.

Geboren bin ich, Hermann Friedrich Euscher, am 9. März 1886 in Essen an der Ruhr als Sohn des Rentners Hermann Euscher. Ich bin preußischer Staatsangehöriger und evangelischer Konfession. Nach dreijährigem Besuche der städtischen Vorschule zu Essen, Ostern 1892 bis Ostern 1895, besuchte ich von Ostern 1895 bis Ostern 1904 das städtische Realgymnasium zu Essen. An dieser Schule erhielt ich Ostern 1904 das Zeugnis der Reife. Vom Sommersemester 1904 bis zum Sommersemester 1908 studierte ich in Marburg und Berlin Naturwissenschaften. Zu Beginn des Sommersemesters 1908 ging ich zum medizinischen Studium über. Als Studierender der Medizin war ich an den Universitäten Marburg, Göttingen und Bonn immatrikuliert. Am 30. Juni 1909 bestand ich mit dem Prädikat cum laude das Rigorosum bei der philosophischen Fakultät der Universität Marburg auf Grund meiner Dissertation: „Das Chitinskelett von Dytiscus marginalis". Prüfungsfächer waren: Zoologie, Chemie, Botanik und Philosophie. Am 13. November 1909 bestand ich in Marburg die ärztliche Vorprüfung mit dem Prädikat „gut". Am 15. Juni 1912 bestand ich in Bonn die ärztliche Staatsprüfung mit dem Prädikat „gut". Meine Approbation als Arzt erhielt ich am 15. Juni 1913. Nach dem Staatsexamen war ich

an dem hygienischen Institut der Universität Bonn, sowie an der Medizinischen Klinik der Städtischen Krankenanstalten zu Essen als Medizinalpraktikant und Assistenzarzt tätig. Vom 1. Oktober 1913 bis zum 1. April 1914 leistete ich meiner Militärpflicht als Einjährigfreiwilliger Arzt genüge; in meinem jetzigen Militärverhältnis bin ich Unterarzt der Reserve. Augenblicklich bin ich als Volontärassistent an der Frauenklinik der Städtischen Krankenanstalten zu Essen beschäftigt.